

U. PORTO

FMUP FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2016/2017

Catarina Sofia Junqueira Correia
Tosse Convulsa:
uma nova velha doença?/
Pertussis: a new old disease?

março, 2017

FMUP

Catarina Sofia Junqueira Correia
Tosse Convulsa:
uma nova velha doença?/
Pertussis: a new old disease?

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Pediatria

Tipologia: Monografia

Trabalho efetuado sob a Orientação de:

Dra. Marta Cadima André Grilo

E sob a Coorientação de:

Doutora Maria Hercília Ferreira Guimarães Pereira Areias

Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:

Jornal de Pediatria

março, 2017

FMUP

Eu, CATARINA SOFIA JUNQUEIRA CORREIA, abaixo assinado, nº mecanográfico 201106107, estudante do 6º ano do Ciclo de Estudos Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 10 / 03 / 17

Assinatura conforme cartão de identificação:

Catarina Sofia Junqueira Correia

Projecto de Opção do 6º ano – DECLARAÇÃO DE REPRODUÇÃO

NOME

CATARINA SOFIA JUNQUEIRA CORREIA

NÚMERO DE ESTUDANTE

201106107

E-MAIL

catarinacorreia03@gmail.com

DESIGNAÇÃO DA ÁREA DO PROJECTO

PEDIATRIA

TÍTULO DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA (riscar o que não interessa)

TOSSE CONVULSA: UMA NOVA VELHA DOENÇA?

ORIENTADOR

DRA. MARTA CADIMA ANDRÉ GRILO

COORDINADOR (se aplicável)

MARIA HERCÍLIA FERREIRA GUIMARÃES PEREIRA AREIAS

ASSINALE APENAS UMA DAS OPÇÕES:

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTES TRABALHOS APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.	<input checked="" type="checkbox"/>
É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTES TRABALHOS (INDICAR, CASO TAL SEJA NECESSÁRIO, Nº MÁXIMO DE PÁGINAS, ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, ETC.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.	<input type="checkbox"/>
DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (INDICAR, CASO TAL SEJA NECESSÁRIO, Nº MÁXIMO DE PÁGINAS, ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, ETC.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTES TRABALHOS.	<input type="checkbox"/>

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 10/03/17

Assinatura conforme cartão de identificação: Catarina Sofia Junqueira Correia

Aos meus pais,

Tosse Convulsa: uma nova velha doença?

Tosse Convulsa: uma nova velha doença?

Catarina S J Correia¹, Marta C A Grilo^{1,2}, Maria Hercília F G P Areias^{1,2}

catarinacorreia03@gmail.com, mcadima@med.up.pt, hguimara@med.up.pt

¹ Faculdade Medicina Universidade do Porto

² Centro Hospitalar de São João

Catarina S J Correia – Pesquisa e análise bibliográfica, redação do artigo e revisão epidemiológica nacional.

Marta C A Grilo – Revisão bibliográfica, revisão do artigo e dados epidemiológicos nacionais.

Maria Hercília F G P Areias – Revisão bibliográfica e revisão do artigo.

Contactos: Catarina Sofia Junqueira Correia

Al. Prof. Hernâni Monteiro, 4200 - 319 Porto, PORTUGAL

Telef: (+351) 22 551 3600 Fax: (+351) 22 551 3601

Telemóvel: 913186377

catarinacorreia03@gmail.com

Os autores encontram-se registados na Plataforma Lattes do CNPq.

Os autores declaram a não existência de quaisquer conflitos de interesse, éticos ou morais.

Trabalho vinculado à Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

Declara-se ainda que o trabalho não teve financiamento.

Total de palavras: 8295

Resumo: 248 palavras

Tabelas e figuras: 1 tabela e 1 figura

Índice

Resumo	3
Introdução	5
Métodos	7
Epidemiologia da tosse convulsa nas últimas décadas	8
 Causas do ressurgimento da tosse convulsa	 11
Preocupações em torno da vacina acelular: será esta suficiente para alcançar o controlo da tosse convulsa?	11
A insuficiente vacinação: a recusa e a falta de acesso	15
Alterações genéticas adaptativas da <i>Bordetella pertussis</i>	16
Aumento do registo de casos de tosse convulsa	17
<i>A melhoria das técnicas de diagnóstico e as novas definições, o aumento do conhecimento, da notificação e da vigilância da doença</i>	17
 Como atuar perante este incremento de casos de tosse convulsa?	 19
Estratégias a curto prazo de forma a controlar a tosse convulsa	19
<i>Vacinação durante a gestação</i>	19
<i>Vacinação do recém-nascido</i>	20
<i>Vacinação dos contactos próximos</i>	21
<i>Vacinação dos adolescentes, adultos e profissionais de saúde</i>	22
<u>Vacinação dos adolescentes</u>	22
<u>Vacinação dos adultos e profissionais de saúde</u>	23
Estratégia a longo prazo: uma nova vacina	24
Conclusão	26
Referências	28
Anexos	32

Resumo

A tosse convulsa é uma doença respiratória muito contagiosa provocada pelo cocobacilo *Bordetella pertussis* (1). O número mais elevado de casos e de maior gravidade regista-se entre crianças com menos de 2 meses (2, 3).

Observou-se um grande declínio do número de casos com a introdução da vacina *whole-cell* entre 1940 e 1950. Porém, devido aos efeitos adversos decorrentes da sua utilização, foram criadas vacinas *acelulares* (4).

Nos últimos anos, ocorreu um incremento acentuado de casos (5), tornando-se uma das doenças preveníveis pela vacinação mais frequentes no Ocidente, com uma prevalência de 1-9% (6). Tem-se registado um aumento de casos entre adolescentes e adultos desde a introdução da vacina *acelular*, sugerindo uma proteção menos duradoura (7).

Existem várias hipóteses para explicar este ressurgimento da tosse convulsa (8), nomeadamente a ineficácia da vacina *acelular* (6, 9, 10), a insuficiente cobertura vacinal (11, 12), modificações genéticas da *B. pertussis* (4, 13), a melhora da vigilância e da notificação da doença ou das técnicas de diagnóstico (4, 8, 13).

Têm-se formulado várias estratégias para controlo a curto-prazo da doença tais como a vacinação das grávidas, do recém-nascido, dos contactos próximos ou a revacinação dos adolescentes, adultos e profissionais de saúde (14, 15). Contudo, todas as estratégias têm as suas limitações. O ideal seria uma solução a longo prazo, como uma nova vacina que permitisse o controlo e a erradicação da infeção. No entanto, apesar de promissor, será provavelmente necessário uma combinação de várias estratégias com vista a alcançar o controlo da tosse convulsa e proteger as crianças, a população mais vulnerável (8, 14, 16).

Palavras-chave: pertussis/tosse convulsa, *Bordetella pertussis*, ressurgimento, vacina/ vacina acelular/ pertussis vacina/ imunização com vacina acelular/ prevenção tosse convulsa, crianças/ proteção neonatal.

Abstract

Pertussis is a very contagious respiratory disease, caused by the coccobacillus *Bordetella pertussis* (1). The highest and the more serious cases are among infants younger than 2 months old (2, 3).

A great decline in the number of cases was observed with introduction of the *whole-cell vaccine*, between 1940 and 1950. However, owing to its resulting adverse effects, *acellular vaccines* were created (4).

In the past few years, a marked increase has been noted, becoming one of the most frequent preventable diseases in the industrialized countries, with an estimated prevalence of 1-9% (6). It has also been noted a raise in cases between adolescents and adults since the introduction of the *acellular vaccines*, suggesting a less lasting protection (7).

There are several hypothesis to explain this resurgence, namely the inefficiency of the *acellular vaccine* (6, 9, 10), an insufficient vaccinal coverage (11, 12), genetic transformations of *B. Pertussis* (4, 13), an improvement in surveillance and notification of patients or diagnostic techniques (4, 8, 13).

It have been proposed several strategies to short-term control of the disease, such as vaccination of pregnant woman, new-borns or close contacts and adolescents, adults and health-care professionals revaccination (14, 15). However, all these strategies have limitations. A long-term solution would be ideal, such as a new vaccine that allowed the control and eradication of the disease. Nonetheless, even if promising, it will be probably necessary a combination of several strategies in order to achieve control of Pertussis and children protection, as this is the most vulnerable group (8, 14, 16).

Keywords: pertussis/whooping cough, *Bordetella pertussis*, resurgence, vaccine/ acellular vaccine/ pertussis vaccines/ acellular pertussis vaccination/ pertussis prevention, children/ neonatal protection.

Introdução

A tosse convulsa é uma doença respiratória severa e muito contagiosa provocada, maioritariamente, pelo cocobacilo gram-negativo aeróbio *Bordetella pertussis* (*B.pertussis*) (1), mas podem ainda estar envolvidas na sua génese, a *Bordetella parapertussis* e a *Bordetella bronchiseptica* (17). Este organismo apenas coloniza o trato respiratório dos humanos e, normalmente, não se dissemina deste. A sua colonização pode causar doença respiratória, cuja apresentação clínica varia substancialmente dependendo da idade e do estado imunológico do indivíduo (18).

A taxa mais elevada de incidência de tosse convulsa regista-se entre crianças, alcançando valores de 88.7/100,000 casos (17), nomeadamente entre crianças com menos de 2 meses (19). De facto, lactentes com menos de 6 meses têm uma taxa de incidência 20 vezes superior à taxa de incidência da restante população e $\geq 90\%$ das mortes ocorrem neste grupo etário (2), sendo particularmente grave entre estes (3) e conduzindo à hospitalização de 80% das crianças doentes com menos de 2 meses (20). Pode ser fatal nesta faixa etária, já que ainda não foi administrada a 1ª dose de vacina ou esquema de vacinação completo, bem como devido à imaturidade do seu sistema imunológico (4). No entanto, esta doença não se restringe a crianças pequenas, afetando simultaneamente crianças mais velhas, adolescentes e adultos (17, 21).

Habitualmente, a apresentação clínica desta doença é caracterizada por quatro fases. Inicia-se com um período de incubação, o qual prevalece, usualmente, uma a três semanas. A este período sucede, normalmente, uma fase catarral, a qual pode durar algumas semanas e se caracteriza por sintomas inespecíficos, tais como febre, rinorreia ou tosse moderada, sendo de destacar uma elevada contagiosidade durante a mesma. Esta fase catarral é seguida por uma fase paroxística, na qual predominam episódios de tosse espasmódica com típicos uivos inspiratórios, os quais podem não ser audíveis em indivíduos vacinados. Esta fase é ainda acompanhada por cianose e vômitos e pode durar até 10 semanas. Por último, surge a fase de convalescença, a qual dura, usualmente, 2 a 3 semanas, caracterizando-se por episódios de tosse com frequência e intensidade cada vez menor (17, 21, 22). Durante este quadro, normalmente não se deteta febre, apenas na presença de sobreinfecção (21). Contudo é de ter em conta que, em casos graves, os quais ocorrem sobretudo em crianças com menos de 6 meses (17), pode complicar-se sob a forma de broncopneumonia, convulsões, encefalopatia aguda, lesões neurológicas permanentes, hipertensão pulmonar com subsequente insuficiência

cardíaca e, em última caso, morte (4, 22). Porém, tanto em adolescentes como adultos, a tosse convulsa pode-se apresentar de forma atípica, com sintomatologia mais atenuada, tornando mais difícil o diagnóstico (7, 17). Para além do quadro clínico, um dos achados laboratoriais característicos desta patologia é a leucocitose, podendo atingir níveis superiores a 100,000/ μ l (21).

Observou-se um grande declínio do número de casos com a introdução da *vacina whole-cell* entre 1940 e 1950 (4). No entanto, devido aos inúmeros efeitos adversos descritos como, convulsões, sequelas neurológicas e até morte súbita, foi criada uma segunda geração de vacinas, as *vacinas acelulares* sem estes efeitos adversos, constituídas por antígenos da *B. pertussis* (4, 13).

Contudo, nos últimos anos, tem-se vindo a assistir a um incremento acentuado de casos, incluindo em países desenvolvidos com elevada cobertura vacinal, onde se considerava esta doença como controlada (5), tornando-se, assim, uma das doenças preveníveis pela vacinação mais frequentes no Ocidente, com uma prevalência de 1-9% nestes países (6). Tem-se vindo a documentar um aumento de casos particularmente entre os adolescentes e adultos desde a introdução da *vacina acelular*, sugerindo que esta origina uma proteção menos duradoura (7).

Atualmente, apesar da boa cobertura vacinal, estima-se que ocorram globalmente, 50 milhões de casos por ano, dos quais resultam 300 mil óbitos anuais, sendo que 90% destes ocorrem em países em desenvolvimento (3).

Esta elevada circulação da *B. pertussis* coloca em risco as crianças que ainda não foram vacinadas com nenhuma dose ou com todas as doses necessárias, os indivíduos mais vulneráveis (6).

São várias as hipóteses colocadas para explicar este ressurgimento da tosse convulsa, ainda não se sabendo, efetivamente, qual a verdadeira. Este acontecimento tem gerado muita preocupação em vários países, formulando-se várias estratégias e já se tendo colocando em prática algumas, de forma a combater este incremento de casos de tosse convulsa (8).

Objetivo: Revisão sistemática de artigos referentes ao ressurgimento da tosse convulsa na população pediátrica, procurando esclarecer as várias causas subjacentes a este ressurgimento, bem como explorar as inúmeras hipóteses para combater este aumento, objetivando identificar a melhor estratégia de atuação e as estratégias que, atualmente poderão ser colocadas em prática de modo efetivo.

Métodos

Realizou-se uma revisão sistemática, procedendo-se à pesquisa na base de dados Pubmed. Pesquisou-se artigos escritos em inglês, publicados até 2016, utilizando as palavras-chave: “pertussis/whooping cough”, “*Bordetella pertussis*”, “resurgence”, “vaccine/ acellular vaccine/ pertussis vaccines/ acellular pertussis vaccination/ pertussis prevention” e “children/ neonatal protection”.

Procedeu-se a uma primeira seleção com base nos títulos dos artigos. Posteriormente realizou-se a seleção com base no seu *abstract* e conteúdo, tendo-se selecionado inicialmente 55 artigos. Adicionalmente, no decorrer do trabalho, procedeu-se à inclusão de mais 18 artigos referenciados no texto dos 55 artigos selecionados inicialmente, bem como um artigo em português do Boletim Epidemiológico do Instituto Nacional de Saúde Ricardo Jorge.

Epidemiologia da tosse convulsa nas últimas décadas

A introdução da *vacina whole-cell* entre 1940 e 1950 veio diminuir significativamente o número de casos de tosse convulsa registados por volta de 1970 (13).

De facto, antes da sua introdução os números eram tão altos como 150 casos por 100,000 nos Estados Unidos da América (EUA), sendo ainda de ter em conta que apenas 20% dos casos eram reportados (21). De forma a exemplificar, no Canadá, as taxas de incidência decaíram de 160/100,000 casos entre 1934-1943 para 11/100,000 entre 1974-1983 (13).

A tosse convulsa era a principal causa de morte nas crianças, estando na origem de 73000 mortes entre 1922 e 1931 nos EUA, a maioria entre crianças. Registando-se uma redução deste número para 56 mortes entre 1983 e 1992 (13).

No entanto, entre 1980 e 1990 os números voltaram a aumentar de volta para 150/100,000 casos devido à recusa da imunização com a *vacina whole-cell*. De facto, no Reino Unido, em poucos anos, a aderência à vacinação diminuiu de 80% para 30% devido ao receio dos seus efeitos adversos, que começaram a ser documentados nesta altura, após a administração da *vacina whole-cell* (23).

Este fenómeno levou ao desenvolvimento das vacinas correntemente utilizadas na maioria dos países desenvolvidos, as *vacinas acelulares*. Estas foram implementadas nos anos 90, sendo compostas por 5 antigénios da *B. pertussis*. Todas as variantes da *vacina acelular* contêm toxoide da tosse convulsa (PT) e, a maioria, contém hemaglutinina filamentosa (FHA) (4, 13, 16). Podem conter ainda, pertactina, fimbrias serotipo 2 e serotipo 3 (16). A eficácia das vacinas contendo 2 componentes foi estimada entre 67-70% e as com 3 e 5 componentes foi estimada em 84% (21).

No entanto, a introdução da *vacina acelular* não conseguiu resolver esta epidemia (8). Têm sido notificados vários surtos de tosse convulsa na Europa, nomeadamente na Holanda, Finlândia e Alemanha, no Canadá, nos EUA, entre outros países (7). Um recente surto nos EUA em 2010 envolveu 9447 crianças, a maioria com menos de 3 meses. De forma semelhante, verificou-se o mesmo padrão num surto em Washington em 2010, o qual afetou 2,520 indivíduos e, apesar da maioria dos doentes ter menos de um ano, documentou-se um elevado número de casos entre os 7-11 anos (24). Em 2012 registou-se um surto no Reino Unido, contando-se 9711 casos, dos quais resultaram 40 mortes em crianças com menos de 3 meses e, apesar do maior número de

casos ocorrer igualmente em crianças pequenas, registou-se um aumento significativo de casos, de forma idêntica ao anterior, entre os 10-14 anos (4).

Para além dos surtos, tem-se vindo a assistir a um aumento gradual e contínuo de casos de tosse convulsa em vários países desde 1980, registando-se um aumento mais acentuado desde 2005 (1), não existindo um padrão geográfico que permita explicar o porquê dos casos aumentarem nuns países e noutros não, não descurando que, em muitos destes países, se regista uma elevada cobertura vacinal (13).

Apesar da cobertura vacinal mundial da tosse convulsa ser de 85% segundo a World Health Organization (WHO) (25) e esta estimar que, globalmente, a vacinação contra a tosse convulsa previne, anualmente, 687000 mortes (26), a tosse convulsa ainda continua a ser a doença prevenível por vacinação mais comum nas crianças (27). Apesar de ser uma doença prevenível por vacinação, a morbilidade e mortalidade que continua a causar, particularmente nos países em desenvolvimento é preocupante. Em 1999, estimou-se 48,5 milhões de casos nas crianças e 295000 mortes relacionadas com a tosse convulsa (13). Já em 2008 registaram-se 16 milhões de casos de tosse convulsa e 195000 mortes, a maioria em países em desenvolvimento (14, 27). Atualmente são mundialmente reportados mais de 50 milhões de casos e cerca de 300,000 mortes decorrentes da tosse convulsa por ano (22). Por outro lado, apesar de ser mais comum nos países subdesenvolvidos, tem-se vindo a assistir a um incremento acentuado de casos nos países desenvolvidos (7).

Com o intuito de documentar esta tendência, num estudo conduzido no Brasil, entre Janeiro de 2007 e Dezembro de 2013, foram notificados 3.451 casos de tosse convulsa, observando-se um aumento crescente e contínuo da incidência da doença ao longo deste período. Registou-se entre 2007 e 2010 uma incidência que oscilou entre 0,15 e 0,76/100 mil habitantes, enquanto em 2013 alcançou-se uma incidência de 4,28/100 mil habitantes. Destes casos, 67,5% (817 pacientes) tinham menos que um ano de idade, tendo sido este grupo etário o mais afetado. Para além disso, verificou-se que a maior taxa de óbitos ocorreu em crianças com menos de 2 meses. Sendo ainda de destacar que 5% (59 casos) das crianças tinham completado o esquema vacinal em vigor (3 doses+2 reforços) e, mesmo assim, desenvolveram a doença (3).

À semelhança do observado a nível mundial, a distribuição de 114 casos de tosse convulsa, confirmados laboratorialmente no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) no Porto entre 2010-2014, evidenciou que a infeção por B. pertussis foi predominante na faixa etária inferior a 6 meses de idade, sendo que 13,2%

(15/114) pertenciam ao grupo etário com idade inferior a 1 mês, 51,7% (59/114) ao grupo etário entre 1-2 meses e 29,8% (34/114) ao grupo etário entre os 3 e 6 meses, o que corresponde a uma percentagem global de 94,7% (108/114). Em relação aos restantes 6 casos dos 114 casos confirmados, o que corresponde a 5,3%, verificou-se que 3,5% (4/114) pertenciam ao grupo de idades entre 1-2 anos e 1,8% (2/114) ao grupo etário superior a 13 anos de idade (gráfico 1) (73).

Para além disto, tem-se vindo a assistir ao longo do tempo a uma alteração da epidemiologia da tosse convulsa (13, 22, 28). Durante muitos anos, as crianças foram o grupo etário com taxas de infeção mais altas, mesmo após a introdução da vacinação. No entanto, entre os finais da década de 1990 e o início de 2000 tem-se assistido a um incremento de casos entre os adolescentes (14, 21). Em 2000, a taxa de incidência observada no grupo etário dos 11-19 anos, foi superior à observada nas faixas etárias dos 1-6 anos e 7-10 anos (20). De facto, nos surtos em 2004 e 2005 nos EUA, 36% e 30% dos casos, respetivamente, ocorreram em adolescentes. Este fenómeno conduziu a adição de uma dose de reforço da *vacina acelular* aos 11/12 anos, o que veio reverter o aumento da incidência na faixa etária mencionada. Já a incidência nas crianças manteve-se inalterada. Por sua vez, esta tendência alterou-se nos surtos observados nos EUA em 2010 e 2012 nos quais, apesar da taxa de incidência mais alta ser na faixa etária de menos de 1 ano, observou-se um grande número de casos em crianças entre os 7-10 anos vacinadas com as 5 doses da *vacina acelular* (29).

Apesar de registar-se um ressurgimento da tosse convulsa em várias regiões, torna-se difícil perceber a verdadeira epidemiologia da doença, pois existem diferenças significativas entre cada país nos sistemas de vigilância, nos programas de vacinação, nos métodos diagnósticos, na vacina utilizada, no ano em que foi implementada a *vacina acelular* e no número de doses administradas e respetiva idade em que são administradas (13, 15, 18, 20).

Causas do ressurgimento da tosse convulsa

Posto isto, coloca-se a questão: ***Qual o porquê de uma doença prevenível por vacinação e com cobertura vacinal tão alta em determinados países, estar a aumentar nos mesmos?***

São várias as hipóteses que se colocam, não existindo ainda um consenso sobre as verdadeiras razões (8). Entre as explicações que se colocam destacam-se as mencionadas na tabela 1 (em anexo).

De seguida abordar-se-á cada uma destas hipóteses mais detalhadamente.

Preocupações em torno da vacina acelular: será esta suficiente para alcançar o controlo da tosse convulsa?

Apesar de se começar a verificar um aumento do número de casos de tosse convulsa em vários países, enquanto ainda estava implementada a *vacina whole-cell* nos mesmos e, de forma análoga, nos países que a continuam a fazer uso desta, tem-se vindo a documentar um incremento mais acentuado de casos nos países que substituíram a *vacina whole-cell* pela *vacina acelular*, inclusivamente naqueles em que se regista uma elevada cobertura vacinal (13, 21).

No entanto, o ressurgimento da tosse convulsa em regiões com elevada cobertura vacinal põe em destaque alguma falha das *vacinas acelulares* (30).

Uma das hipóteses, sustentada na maioria dos estudos, é uma menor duração da proteção contra a tosse convulsa conferida pela *vacina acelular* do que pela *vacina whole-cell* (9, 13), estimando-se que a duração da proteção da *vacina acelular* seja de aproximadamente 3 anos, assumindo uma eficácia da vacina de 85% (31).

A preocupação em volta deste fenómeno surgiu pela primeira vez em 2006, quando *Gustafsson et al.*, reportou um aumento de casos na Suécia em crianças entre os 6 e os 8 anos as quais, na sua maioria, haviam recebido a *vacina acelular* aos 3,5 e 12 meses (30). Apesar de esta preocupação perdurar desde há cerca de 10 anos até hoje, os resultados dos estudos diferem entre vários países já que, cada país é diferente numa multiplicidade de fatores, como por exemplo, nos programas de vacinação. Com o

intuito de exemplificar a afirmação anteriormente exposta, enquanto *Laugauer* demonstrou uma efetividade de 92% da *vacina whole-cell* e de 89% da *vacina acelular* após 6 anos de vacinação (15), num surto em 2010 na Califórnia a efetividade da 1ª dose da *vacina acelular* e das doses de reforço administradas aos 12-18 meses e 4-6 anos foi de 41% para as crianças entre os 2-7 anos, mas apenas 24% para as crianças, entre os 8-12 anos, sugerindo uma perda da imunidade contra a tosse convulsa contínua e precoce (32). De forma semelhante, num estudo observacional levado a cabo no Reino Unido a efetividade da *vacina* baixou para 52% após 5 anos a vacinação, e para 46% após 7 anos (15). Noutro estudo conduzido na Califórnia em crianças com idades compreendidas entre os 4-12 anos verificou-se que, após a 5ª dose da *vacina acelular*, o risco de adquirir tosse convulsa aumentava 42% por ano (19).

Reforçando a ideia anteriormente defendida, *Zepp et al.* documentou um aumento do número de casos de tosse convulsa entre adolescentes e adultos recentemente na Europa (26). De forma análoga, um estudo Norueguês, constatou que houve um aumento de casos de tosse convulsa de 4 vezes entre os adolescentes após a utilização generalizada da *vacina acelular*, verificando ainda que, 5 anos após a administração da última dose da *vacina acelular*, 15% das crianças às quais foi administrado o esquema vacinal completo haviam perdido a imunidade conferida pela mesma (26). De forma semelhante, *Klein et al.* concluí durante um surto de tosse convulsa nos EUA em 2010-2011 que as crianças vacinadas com *vacina whole-cell* estavam mais protegidas do que com *vacina acelular*, verificando-se o mesmo em vários estudos realizados noutras regiões (7).

Tanto a *vacina acelular* ou *whole-cell*, como a infeção natural pela *B. pertussis*, não conferem proteção contra a tosse convulsa para toda a vida (33), estando esta restrita a um período de 4-12 anos após a imunização e 4-20 anos após a infeção natural, contribuindo ambas as situações para um aumento de casos entre adolescentes e adultos (14).

No entanto, a menor duração da imunidade após administração da *vacina acelular*, conduziu a um desvio do pico de incidência da doença das crianças em idade pré-escolar para os adolescentes/adultos e, por sua vez, incrementando a transmissão da infeção pela *B. pertussis* destes para os lactentes não vacinados ou para as crianças que ainda não completaram o esquema vacinal completo (16, 34, 35). Esta perda da imunidade mais precoce, tornando os indivíduos vacinados mais precocemente e novamente suscetíveis à infeção explica, assim, o progressivo aumento de casos entre os

7-11 anos, o que não se constatava aquando da administração da *vacina whole-cell*, a qual conferia proteção nesta faixa etária devido à sua imunidade mais duradoura (4, 31).

Na base deste fenómeno poderá estar uma estimulação inadequada/insuficiente das células T após a imunização com a *vacina acelular* (8, 31). De facto, estudos em humanos e animais revelam que a *vacina whole-cell* e a *vacina acelular* induzem uma resposta imune diferente. Enquanto a *vacina whole-cell* desencadeia uma resposta imune levada a cabo pelas células T *helper* 1 (Th1) e T *helper* 17 (Th17), a *vacina acelular* induz uma resposta predominantemente pelas células T *helper* 2 (Th2) ou uma resposta mista pelas células Th1 e Th2 e pelas Th17 (8, 36). Segundo Ross *et al.*, enquanto a indução das células Th1 e Th17 é crucial para a conceção de proteção contra a *B. pertussis*, as células Th2 parecem ser dispensáveis para esta ação (36). Esta conclusão é fundamentada pela evidência de que é a infeção natural, ao invés da *vacina acelular* ou *whole-cell*, a que promove imunidade mais duradoura, sendo que esta desencadeia uma resposta levada a cabo maioritariamente pelas células Th1 e, numa menor proporção, pelas Th17 (8). Posto isto, conclui-se que a *vacina whole-cell* induz uma resposta imunológica mais semelhante à infeção natural pela *B. pertussis* conferindo, por isso, uma imunidade mais duradoura que a *vacina acelular* (9).

Por outro lado, tanto a *vacina whole-cell*, como a *vacina acelular*, não conseguiram controlar efetivamente a doença, uma vez que os ciclos de tosse convulsa continuaram a ocorrer a cada 3-5 anos após a introdução de ambas as vacinas (21). De fato, estudos recentes conduzidos num modelo “não-humano”, confirmaram que a vacinação, apesar de prevenir a doença, não previne a transmissão da *B. pertussis* e, por sua vez, a consequente colonização e infeção (9, 10, 31). Neste estudo, recorreu-se a babuínos, imunizando-se alguns com a *vacina acelular* e outros com a *vacina whole-cell* e, após 7 meses, colocaram-se estes em contacto com a *B. pertussis*, sendo que todos foram colonizados pela bactéria. Pelo contrário, os animais convalescentes (que tinham sido previamente infetados) aparentemente resistiram à infeção, não sendo colonizados. Conclui-se, assim, que apesar de ambas as vacinas protegerem contra a sintomatologia severa da tosse convulsa, não evitam a transmissão da *B. pertussis*, a sua colonização e consequente infeção. No entanto, nos animais imunizados com a *vacina whole-cell* observaram-se níveis inferiores de colonização pela *B. pertussis*, bem como uma eliminação da infeção mais rápida comparativamente com os não-imunizados e os imunizados com *vacina acelular*. Sendo ainda de destacar que a infeção nos imunizados

com *vacina acelular* não se resolveu mais rápido do que nos não-imunizados (4, 9, 10, 36).

Deste modo, apesar da limitação mencionada ser inerente a ambas as vacinas, como a percentagem de colonização verificada foi diferente, a mudança da vacina *whole-cell* para a *acelular* poderá ter contribuído para um aumento mais acentuada da infecção assintomática, tendo-se assim adotado uma vacina menos eficaz. Segundo *Althouse et al.*, a transmissão assintomática da *B. pertussis* é um dos mecanismos principais para explicar o ressurgimento da tosse convulsa em populações com elevadas taxas de vacinação, referindo que houve um aumento de infecções assintomáticas após a mudança da vacina, bem como um subsequente aumento da incidência da doença (37). Confirmando o mencionado anteriormente, em todos os países em que existem registos, a percentagem de amostras seropositivas para a *B. pertussis* excede várias vezes o número de casos de doença reportados (38). Seria necessário que 92% a 95% da população estivesse imune para prevenir esta transmissão (26).

Para além de tudo o que foi anteriormente descrito, é importante ter em conta que existem vacinas diferentes aprovadas em diferentes locais com, por exemplo, desigual número de antígenos, interferindo este diferente número com a eficácia e a duração da proteção conferida por estas (13, 18, 39). De facto, as *vacinas acelulares* compostas por 3 ou 5 antígenos têm uma eficácia superior na prevenção da tosse convulsa típica e moderada do que as com 1 ou 2 antígenos, bem como conferem uma proteção mais duradoura (18, 39), verificando-se que, 5 anos após a vacinação de crianças na idade pré-escolar com uma dose de reforço, as crianças que receberam a vacina com 3 antígenos apresentaram níveis elevados de anticorpos IgG anti – toxina *pertussis* (PT) durante mais tempo que as que receberam a vacina com 2 antígenos (6, 8)(9, 15, 18, 39).

Contudo, a falha poderá não estar somente na vacina. Outras variantes poderão estar a contribuir para esta perda da imunidade mais precoce, nomeadamente a diminuição de reforços por infecções naturais ou mecanismos adaptativos da bactéria. A variação dos antígenos da *B. pertussis* pode diminuir a eficácia dos anticorpos produzidos em resposta à vacina, bem como afetar o reconhecimento pelas células T e B de memória (6).

Em conclusão, a substituição da *vacina whole-cell* pela *vacina acelular*, uma vacina que induz uma resposta imune diferente (36), conferindo proteção durante menos tempo, bem como uma vacina que continua a não prevenir a transmissão da infecção e a

colonização (37) poderá ser uma possível explicação para o ressurgimento da tosse convulsa (9). No entanto, esta mudança não poderá explicar isoladamente este ressurgimento, pois o aumento da incidência da doença começou a observar-se antes desta, apesar de menos acentuado (21).

A insuficiente vacinação: a recusa e a falta de acesso

A explicação mais simples para a persistência de uma doença infecciosa prevenível pela vacinação, seria a inadequada aderência à vacina (5). Apesar de todos os esforços e recomendações, ainda existe uma falta de cobertura vacinal significativa, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento (11, 13). Vários estudos denotaram uma substancial falta de cobertura vacinal em vários países, registando-se valores de 5,9% a 45,5%, bem como uma falta de aderência às recomendações, mesmo entre aqueles com acesso aos cuidados médicos e à vacinação (11). Este problema é observado mundialmente, estimando-se que 22,6 milhões de crianças não completaram o esquema vacinal (3 doses no primeiro ano de vida) (40). Deste modo, neste grupo estão incluídos não só aqueles que estão privados da vacinação devido às barreiras económicas e logísticas (5), tal como aqueles que se mostram relutantes face à vacinação (11, 12).

É notável em algumas populações dos EUA, uma correlação entre o aumento do número de crianças não vacinadas ou incompletamente vacinadas e os surtos de tosse convulsa nessas regiões (5). No entanto, para estudar este fenómeno, *Wolf et al.* realizou um estudo ecológico em Washington, comparando a proporção de crianças com ≥ 1 , ≥ 2 e ≥ 3 vacinas contra a tosse convulsa aos 3, 5 e 7 meses, antes, durante e após um surto de tosse convulsa (entre Outubro de 2011 e Dezembro de 2012) de forma a quantificar o impacto da recusa da vacinação, no aumento do número de casos. Neste estudo observou-se um ligeiro aumento de casos em consequência da recusa da vacinação, contudo este aumento não foi estatisticamente significativo (12).

Deste modo, a recusa da vacinação, apesar de, isoladamente, não explicar o ressurgimento da tosse convulsa, quando combinado com os outros fatores anteriormente descritos, poderá ter algum impacto.

Pelo que, é essencial realizar esforços para aumentar a aderência à vacinação e o cumprimento do esquema vacinal completo.

Alterações genéticas adaptativas da Bordetella pertussis

Uma outra hipótese formulada foi o surgimento de alterações genéticas nas bactérias *B. pertussis*, conduzindo à circulação de novas estirpes de *B. pertussis* em várias regiões, diferentes das contempladas para a criação das *vacinas acelulares*. Esta hipótese poderia, ainda, explicar o porquê de países com as mesmas políticas de vacinação, isto é, que utilizam a mesma vacina e cumprem o mesmo esquema vacinal, apresentarem um padrão epidemiológico da tosse convulsa ao longo do tempo, por vezes, tão diverso (13).

Com a introdução da *vacina acelular* em vários países verificou-se, em alguns destes, o surgimento de variantes de *B. pertussis* com alterações nos seus antígenos decorrentes de alterações alélicas, nomeadamente polimorfismos de nucleótidos, diferindo das variantes de *B. pertussis* contempladas na *vacina acelular* podendo, assim, ser resistentes à vacina, sugerindo que a vacina impôs uma seleção de certas variantes de *B. pertussis* (13, 14).

De facto, verificaram-se duas alterações principais, nomeadamente uma divergência dos antígenos da *B. pertussis*, bem como o surgimento de estirpes com uma produção aumentada de toxina *pertussis* (Ptx) (6). Já se documentaram alterações em vários genes, nomeadamente no fim2 e fim3 (os quais codificam as fímbrias que estão envolvidas na aderência da bactéria e na modulação da resposta imune), no prn (que codifica a pertactina e facilita a ligação às células eucarióticas), no ptxA (que codifica uma subunidade catalítica da Ptx envolvida na supressão da resposta imune) e no ptxP (o promotor da Ptx) (6, 13). Existindo evidência indireta que estas alterações foram desencadeadas pela pressão seletiva induzida pela *vacina acelular* (13, 41) (8, 21) (20) (42) (43).

Em suma, enquanto em alguns países o aparecimento de alterações alélicas na *B. pertussis* coincide com um aumento do número de casos de tosse convulsa, noutros isto não se verifica, não se sabendo o verdadeiro impacto destas alterações no incremento do número de casos. Desconhece-se se esta diferença deve-se a diferentes métodos de vigilância e diagnóstico ou a diferenças na imunidade da população (6).

É crucial perceber qual a verdadeira causa, de forma a implementar vacinas e estratégias de vacinação efetivas, as quais permitam a proteção contra as atuais estirpes de *B. pertussis*. Tomando conhecimento das estirpes circulantes, pode-se criar novas vacinas dirigidas a estas (13). Por exemplo, com vista a atuar sobre as estirpes com

produção aumentada de Ptx, em vez de se manipular a toxina Ptx de forma a remover a sua toxicidade, poderá se atuar sobre o gene ptX com o mesmo propósito, o que leva a uma formação de anticorpos contra a Ptx mais eficazes e persistentes, ou poder-se-ia aumentar a concentração do antígeno PT na vacina, estratégia já aplicada na Dinamarca (6).

Aumento do registo de casos de tosse convulsa

A melhoria das técnicas de diagnóstico e as novas definições, o aumento do conhecimento, da notificação e da vigilância da doença

As alterações que se têm vindo a observar nas taxas de incidência da tosse convulsa nos vários países podem não refletir a verdade (13). Se, por um lado, as taxas de incidência se encontram subestimadas, devido à falta de notificação dos casos, tanto nos países em desenvolvimento, como em todo o mundo, particularmente no caso dos adolescentes e adultos, os quais apresentam, normalmente, uma sintomatologia mais ténue, o que torna mais difícil o diagnóstico (1, 13). Por outro lado, vários autores referem que a criação de novas definições de tosse convulsa, o aumento do conhecimento sobre a doença, da vigilância e da notificação de casos, bem como a melhoria das técnicas de diagnóstico através da utilização do PCR e ELISA, os quais permitem o diagnóstico de casos nos adolescentes e adultos que antes passavam despercebidos e a deteção de infeção assintomática, poderá estar na origem do aparente aumento de casos de tosse convulsa (13, 28, 44, 45).

Sendo assim, alguns autores consideram que a relativa estabilidade do número de casos documentados entre as crianças e o aumento substancial de casos nos grupos etários mais velhos, suporta a hipótese que, a vigilância e as novas técnicas de diagnóstico estão na origem deste ressurgimento da tosse convulsa (13). Por outro lado, as referências aos surtos e ao ressurgimento da tosse convulsa têm vindo maioritariamente dos países desenvolvidos, com acesso aos recentes métodos de diagnóstico e sistemas de vigilância implementados. Porém, é muito provável que os casos ocorridos na China, Índia, Indonésia, Paquistão, Nigéria e outros países com elevada população e sem acesso a estas novas tecnologias estejam subestimados, não

refletindo o verdadeiro panorama do ressurgimento da tosse convulsa já que, segundo a WHO, a maioria dos casos ocorre nos países em desenvolvimento (95%) (7).

No entanto, existem várias evidências indiretas que suportam que este aumento de casos de tosse convulsa é real. De facto, começou a observar-se um aumento de casos de tosse convulsa em vários países entre 1970 e 1985 (46), antes da implementação dos novos métodos de diagnóstico, bem como do aumento da atenção e vigilância sobre os casos nos adolescentes e adultos (13).

Posto isto, esta hipótese, pelo menos isoladamente, não explica o ressurgimento da tosse convulsa, pois não explica a substancial diferença no aumento do número de casos entre países com sistemas de vigilância e meios de diagnóstico semelhantes, nem o predominante aumento de casos em determinados grupos etários antes da implementação generalizada destes novos meios de diagnóstico.

Como atuar perante este incremento de casos de tosse convulsa?

De forma a evitar o continuo aumento de casos de tosse convulsa será necessário encontrar uma solução a longo prazo e definitiva, o que vai demorar. Como tal, surge a necessidade de adotar medidas a curto-prazo que permitam um controlo deste ressurgimento.

Estratégias a curto prazo de forma a controlar a tosse convulsa

Com o fim de alcançar um controlo da tosse convulsa a curto-prazo têm sido propostas novas estratégias de vacinação (14, 15, 31).

Vacinação durante a gestação

Recentemente foi proposto e recomendado em vários países, tal como no Reino Unido e EUA (15), bem como pela *Global Pertussis Initiative* (GPI) (31), a imunização da grávida entre as 27/28 e as 36/38 semanas de gestação, com o intuito de gerar anticorpos maternos que sejam transmitidos de forma passiva através da placenta e, por sua vez, protejam o recém-nascido da infeção, enquanto este ainda não recebeu a vacina (16, 47, 48). Devendo esta administração ser repetida numa subsequente gestação (15, 48).

Esta proposta baseou-se em informação antiga, a qual revelava que na era pré-vacinal, as mortes decorrentes da tosse convulsa no 1º mês de vida eram 1/3 das que se observavam no 2º e 3º mês de vida, enquanto na era pós-vacinal isto não se verificava, o que sugeriu que a vacinação veio diminuir o nível de anticorpos transmitidos ao recém-nascido, tornando estes mais suscetíveis à doença e respetivas comorbilidades (8).

De facto, constata-se uma eficiente passagem de anticorpos maternos contra a *B. pertussis* através da placenta para o recém-nascido, registando-se níveis consideravelmente mais elevados de anticorpos em crianças de 1 mês de idade cujas mães foram vacinadas durante a gravidez, em comparação com os irmãos nascidos antes da vacinação da mãe (14, 16, 48, 49). Alcançou-se um resultado semelhante, aquando da vacinação da mulher não-grávida no período entre duas gestações consecutivas (14).

Vários estudos revelam que a vacinação durante a gestação é segura, bem tolerada e previne a doença nos recém-nascidos com uma eficácia de 90% (21, 48). Aliás, um estudo recente, afirma que a vacinação no segundo trimestre de gestação permite um nível superior de anticorpos no recém-nascido, o que poderá levar à alteração das atuais recomendações (47). Para além disso, assume-se como uma estratégia custo-efetiva. Num recente estudo conduzido nos EUA verificou-se prevenir um número mais elevado de casos e mortes infantis que a vacinação da mãe no período pós-parto. Na Holanda o custo-efetividade da vacinação das grávidas ou dos contactos próximos foi semelhante (15).

No entanto, a presença de anticorpos maternos no recém-nascido pode atenuar a resposta imune do recém-nascido à primeira dose de vacina, diminuindo a produção de anticorpos contra a *B. pertussis* e, por sua vez, reduzindo a proteção contra esta nos primeiros meses de vida (2, 14, 48, 50). Estudos recentes revelam que, após a primeira toma de vacina, os níveis de anticorpos contra os antígenos da *B. pertussis* foram inferiores nos recém-nascidos de mães imunizadas durante a gestação (16, 51). Porém, o efeito clínico deste achado não está determinado, desconhecendo-se qual o nível de anticorpos necessário para conferir proteção (15, 48). Por outro lado, é improvável que os anticorpos maternos persistam no recém-nascido na concentração necessária para conferir proteção (14), bem como este efeito protetor é limitado para os recém-nascidos pré-termo (16).

Vacinação do recém-nascido

A vacinação do recém-nascido logo ao nascimento é outra possível estratégia que pode ser adotada com vista a proteger as crianças nos primeiros meses de vida (14), quando estas são mais vulneráveis, sendo bem tolerada e acelerando a formação de anticorpos contra a pertactina, FHA e PT (15, 48, 52).

No entanto, os resultados, mais uma vez, são contraditórios. Num estudo em que se administrou a *vacina acelular* isolada ao nascimento, para além de não se verificar interferência com as subseqüentes vacinas, verificou-se uma aceleração da resposta contra os antígenos do *B. pertussis* até aos 7 meses (16). Para além disto, verificou-se que a adição de outra dose ao 1 mês de idade reforçava esta resposta, bem como não interferia negativamente com as subseqüentes doses de *vacina acelular* (16). Já em dois

estudos em que se administrou a *vacina acelular* ao nascimento e as *vacinas acelular-hepatite B (HBV) - Haemophilus Influenza tipo b (Hib)* aos 2, 4 e 6 meses, verificou-se uma resposta imune melhorada aos 2 e 8 meses contra os antígenos da *B. pertussis*, mas baixos níveis de anticorpos contra a hepatite B e *Haemophilus influenza* tipo b (14, 52, 53). Para além disso, num estudo conduzido na Austrália, no qual se administrou uma dose da *vacina acelular* ao nascimento e outra ao 1 mês de idade, constatou-se que a vacinação antes dos 2 meses induzia níveis significativamente mais altos de anticorpos aos 2 meses, bem como não interferia com a resposta às restantes vacinas administradas que contemplam o plano nacional de vacinação (54). Um modelo aplicado em babuínos permitiu concluir que, tanto a vacinação durante a gestação como no recém-nascido conferiam proteção contra a *B. pertussis* (48).

No entanto, observa-se geralmente uma fraca resposta imunológica perante a vacinação ao nascimento (14), o que poderá ser explicado pela imaturidade do sistema imunológico do recém-nascido, sendo que a vacinação do recém-nascido pode estimular os linfócitos CD4⁺ de forma diferente (55), bem como pela presença de anticorpos maternos ainda em circulação no recém-nascido (56).

Deste modo, dados os resultados contraditórios, são necessários mais estudos sobre este efeito (8), não estando atualmente recomendada a vacinação ao nascimento com a *vacina acelular* (15).

Vacinação dos contactos próximos

Outra estratégia sugerida, já implementada em alguns países e que se objetiva implementar em vários países do Ocidente, trata-se da vacinação dos contactos próximos das crianças com menos de 6 meses, entre os quais os familiares e cuidadores (15, 16, 21, 22, 31). Se for impossível vacinar todos os contactos próximos, o seguinte objetivo, será vacinar ambos os pais e, continuando a não ser possível, vacinar somente a mãe (31). O ideal será implementar esta estratégia antes do nascimento da criança ou imediatamente após o mesmo (31).

Esta estratégia fundamenta-se na evidência que os contactos próximos, principalmente as mães, são a fonte de infeção mais comum (48, 57), estando na origem de até 75% dos casos (15). No entanto, a vacinação isolada das mães no período pós-parto não se reflete num decréscimo significativo de casos (14, 58, 59). Num estudo levado a cabo nos EUA, em mais de 500 crianças, a imunização apenas das mães no

período pós-parto com *vacina acelular* não reduziu o número de casos nas crianças com menos de 6 meses (58). Isto denota que a vacinação isolada das mães não é suficiente, sendo necessário vacinar, para além das mães, todos os contactos próximos (15).

No entanto, há que ter em conta que a máxima resposta à *vacina acelular* não é obtida antes dos 14 dias e, como tal, os recém-nascidos podem continuar em risco com a adoção isolada desta estratégia (15, 16, 48). Para além disso, esta estratégia não é muito efetiva pois, como já foi mencionado, a vacinação evita a doença, mas não a transmissão da infeção (10, 37, 48, 58). Num recente estudo que combinou a vacinação dos contactos próximos, incluindo a mãe no período pós-parto, não se verificou um decréscimo dos casos de tosse convulsa nos primeiros 6 meses de vida (37). Por outro lado, durante um surto no Canadá em 2010, esta estratégia foi adotada simultaneamente com outras, como a vacinação dos adolescentes e adultos, permitindo, deste modo, uma redução da incidência de 23.4 para 2/100,000 casos num ano (15). Para além do descrito, vários estudos confirmam que se trata de uma estratégia custo-efetiva. Num estudo conduzido na Holanda no qual se vacinou ambos os pais, apesar de ter sido a estratégia mais cara implementada, foi a mais efetiva, permitindo uma redução de 26% dos casos entre as crianças (60). No entanto, um recente estudo Canadano, concluiu que a vacinação dos pais é cara e ineficiente nas regiões com baixas taxas de incidência (59, 61). Para além do descrito, é uma das estratégias que mais esforço exige para ser implementada (14, 16), conseguindo-se alcançar uma cobertura vacinal razoável nas mães após o parto, mas não acontecendo o mesmo com os pais e outros familiares (48).

Posto isto, são necessários mais estudos para perceber o verdadeiro impacto desta estratégia nos países em que está a ser implementada (15).

Vacinação dos adolescentes, adultos e profissionais de saúde

Por fim, foi proposto, com o intuito de alcançar o controlo da tosse convulsa, a adição de doses de reforço após a idade pré-escolar, incluindo a vacinação de adolescentes, adultos e profissionais de saúde (8, 14).

Vacinação dos adolescentes: No esquema de vacinação de vários países é incluída uma dose de reforço na idade pré-escolar de forma a aumentar a imunidade de grupo e reduzir a transmissão para os indivíduos suscetíveis (34). Sabendo que atualmente se reportam taxas de incidência elevadas entre os adolescentes, foi proposto adicionar uma

dose de reforço neste grupo etário (15, 19, 31). No entanto, os resultados variam consoante as regiões. Enquanto durante um surto nos EUA, no qual se vacinou 499 adolescentes, a efetividade da vacinação foi de apenas 65,5% (62), na Austrália, em 2004, procedeu-se à vacinação de 272,000 adolescentes (com idades compreendidas entre os 12-19 anos), obtendo-se uma efetividade de 78% (63).

Atualmente, a Academia Americana de Pediatria recomenda a administração de uma dose de reforço de *vacina acelular* entre os 11 e os 18 anos, preferencialmente entre os 11 e os 12 anos, em vez de vacina difteria-tétano (DT) apenas. Esta estratégia visa não só proteger os adolescentes da tosse convulsa, tal como diminuir o reservatório de *B. pertussis* na população, diminuindo assim o risco de infeção indireta nas crianças mais pequenas, que têm um maior risco de complicações (14, 16, 64).

Esta estratégia, tal como a vacinação de adultos, permitiu uma redução de casos entre estes grupos, no entanto o número de casos entre as crianças com menos de 6 meses manteve-se inalterado (31, 48). Na Europa, apenas alguns países incluíram esta dose de reforço nos adolescentes, nomeadamente a Áustria, Bélgica, Finlândia, França, Alemanha e algumas regiões de Itália, sendo necessário implementar sistemas de vigilância nestes locais de forma a avaliar o verdadeiro impacto desta dose de reforço. Com base em nove estudos, a vacinação dos adolescentes verificou-se ser custo-efetiva comparado com não vacinar, aliás segundo *Purdy et al.*, imunizar os adolescentes na faixa etária entre os 10-19 anos seria a estratégia mais económica (15, 65). Para além disto, vários estudos demonstraram a segurança e imunogenicidade destas doses de reforço em adolescentes e adultos (14).

Vacinação dos adultos e profissionais de saúde: A administração de uma dose de reforço aos adultos e aos profissionais de saúde também é defendida (14, 31). O objetivo de imunizar estes últimos, seria prevenir a transmissão da infeção particularmente para os indivíduos mais vulneráveis, como as crianças, grávidas e imunocomprometidos, já que estes são, muitas vezes, a fonte de infeção. No entanto, é necessário levar a cabo estudos sobre a efetividade da vacina na proteção destes e dos seus contactos (15, 66).

A implementação de uma dose de reforço nos adultos na faixa etária entre os 19 e os 64 anos também foi recomendada pelo Comité Consultivo em Práticas de Imunização (ACIP), nomeadamente nos adultos que não receberam ainda uma dose de reforço, que receberam a vacina difteria-tétano (DT) há mais de 10 anos, ou que não

tinham previamente recebido a vacina difteria-tétano-tosse convulsa desde 2005 e, em 2012, a ACIP alargou esta recomendação a todos os adultos com mais de 65 anos (66, 67). Esta recomendação, para além de proteger esta faixa etária, seria uma forma de aumentar a imunidade de grupo e conduzir a uma possível erradicação da infeção pela *B. pertussis* (15).

Atendendo ao exposto, o ideal será implementar inicialmente uma dose de reforço para os adolescentes e de seguida alargar até à idade adulta (15).

Estratégia a longo prazo: uma nova vacina

Atendendo às várias limitações da *vacina acelular* mencionadas, mesmo com a adoção das diferentes estratégias de vacinação referidas previamente, será difícil o controlo da tosse convulsa. Como tal, a solução a longo-prazo poderá passar pela criação e adoção de uma nova vacina (16).

De forma a aumentar a eficácia da *vacina acelular*, já se formularam várias hipóteses (21). Uma destas estratégias seria a adição de novos antígenos da *B. pertussis* às vacinas pré-existentes, tendo em conta as alterações documentadas nas atuais variantes de *B. pertussis* circulantes nas várias regiões (9, 16, 31). Outras hipóteses seriam a incorporação de novos adjuvantes que induzam uma resposta imunológica forte pelas células Th1 e Th17, como os agonistas dos recetores *Toll-like* (26) ou de novas formulações de micropartículas ou vesículas da membrana externa (*OMVs*) (9, 16, 21, 31). *Garlapatti et al.*, criaram uma nova vacina composta pela toxina *pertussis* (PT) encapsulada em micropartículas e com novos adjuvantes, constatando que esta vacina induzia uma resposta predominante pelas células Th1 e Th17, originando uma proteção contra a tosse convulsa mais precoce e duradoura (68, 69). Foi, ainda, criada uma vacina que combina *OMVs* de ambas as espécies de *B. pertussis* (*OMVs_{Bp+Bpp}*), a qual contém um elevado número de imunógenos, pelo menos 40, evitando, assim, a pressão seletiva da *vacina acelular* que contém poucos antígenos. Esta vacina para além de proteger contra ambas as espécies de *B. pertussis* induz as células Th1/Th2 e Th17, pelo que, propôs-se imunizar inicialmente as crianças com esta vacina e, posteriormente administrar a *vacina acelular* nas seguintes doses (31).

Com vista a contrariar o aumento de casos registado aquando da substituição da *vacina whole-cell* pela *vacina acelular*, colocou-se a hipótese de criar uma nova *vacina*

whole-cell melhorada e menos reatogénica, prevenindo-se os efeitos adversos decorrentes da sua administração e estimulando uma resposta imune duradoura, ao induzir predominantemente as células Th1 e Th17 (16). No entanto, ainda não se sabe como modificar a *vacina whole-cell* de forma a esta ser menos reatogénica e igualmente eficaz (9).

Nos países desenvolvidos poderia introduzir-se novas vacinas com novos antígenos e adjuvantes e, nos países em desenvolvimento, novas *vacinas whole-cell* com menor toxicidade. Por outro lado, esta vacina $OMVs_{Bp+Bpp}$ poderia ser implementada mundialmente, devido ao seu baixo custo e toxicidade, contendo um número elevado de antígenos de forma semelhante à *vacina whole-cell* (31).

Porém, nenhuma destas vacinas induz imunidade local, de forma a impedir a colonização e infeção pela *B. pertussis* (21). De facto, é imprescindível que esta nova vacina induza imunidade local, de forma semelhante à infeção natural (16), uma vez que a infeção assintomática é uma das principais explicações para o ressurgimento da tosse convulsa (37). Posto isto, sabendo que a melhor forma de prevenir a infeção, é uma infeção anterior, foi desenvolvida, com vista a atingir este objetivo, uma vacina viva atenuada nasal, designando-se por *BPZE1*, a primeira candidata (46). Esta, de forma semelhante à infeção natural, induz uma resposta imunológica local, ao nível da mucosa nasal e sistémica. Verificou-se, num estudo realizado em ratos, que esta origina uma proteção mais rápida e duradoura contra a *B. pertussis* que a *vacina acelular* (16, 70). Para além disto, verificou-se num estudo levado a cabo em babuínos que induz as células Th1/Th17 como desejado (31, 71). Esta vacina foi recentemente utilizada num ensaio clínico com humanos, verificando-se ser segura, conseguir colonizar a nasofaringe do humano e induzir formação de anticorpos contra a *B. pertussis* em todos os indivíduos colonizados (72). Registou-se ainda que, os níveis de anticorpos 6 meses após a administração de *BZEPI* eram tão elevados como após 1 mês de toma da *vacina acelular*.

Propôs-se, assim, a primeira imunização da criança com a vacina *BZEPI* e seguidamente, a imunização com a *vacina acelular* nas subseqüentes imunizações (31).

Em suma, novos estudos têm de ser levados a cabo para perceber a segurança da sua administração nos recém-nascidos, bem como às crianças e adultos como dose de reforço.

Conclusão

Em 1988, Noel Preston comentou que a tosse convulsa era das doenças que tinham gerado mais discussão e contradição. Passados 28 anos desde esta declaração, continua a constatar-se o mesmo (13).

O ressurgimento da tosse convulsa, inclusivamente nas regiões com elevada cobertura vacinal, que se tem vindo a assistir em vários cantos do planeta, tem vindo a despertar preocupação mundialmente (18), tornando-se urgente tomar medidas que permitam um controlo da doença (16).

É emergente arranjar uma solução que permita a proteção das crianças, as quais são as mais vulneráveis à doença, apresentando uma morbidade e mortalidade relacionada com a tosse convulsa mais preocupante. No entanto, não nos podemos cingir a este objetivo, sendo crucial, simultaneamente, prevenir a morbidade e a mortalidade decorrente da tosse convulsa em todos os grupos etários, bem como prevenir a transmissão e consequente infeção com a *B. pertussis* (8, 14).

Saber qual a causa ou as principais causas que estão na base do ressurgimento da tosse convulsa, nos vários países, é imprescindível para se implementar uma nova vacina e um programa de vacinação adequado (8, 13).

Como descrito ao longo do artigo, apesar da *vacina acelular* proteger as crianças dos casos severos de tosse convulsa, a sua curta duração da imunidade contra a *B. pertussis*, bem como o facto de não prevenir a transmissão e colonização com a *B. pertussis* e a consequente infeção, são importantes limitações que poderão estar na base do ressurgimento da tosse convulsa. Outras explicações para este incremento da tosse convulsa poderão ser a evolução das estirpes de *B. pertussis* de forma a tornarem-se resistentes à vacina, a melhoria das técnicas de diagnóstico e dos sistemas de vigilância da tosse convulsa ou a recusa da vacinação (8, 13, 37).

No entanto, não podemos descurar a importância da *vacina acelular*, apesar das suas limitações. Esta protege contra os casos severos de tosse convulsa (48), bem como permitiu aumentar significativamente a cobertura vacinal, ao “livrar-se” dos efeitos adversos da *vacina whole-cell* que levaram a uma recusa da vacinação crescente.

Dada a substancial heterogeneidade que se observa mundialmente entre os vários países no que toca às taxas de incidência da doença, às vacinas utilizadas e sua composição, às doses administradas, às dinâmicas demográficas e sociais bem como às alterações genéticas da *B. pertussis* é difícil perceber a verdadeira explicação deste

ressurgimento (13, 37). Mesmo em países semelhantes em termos socioeconómicos e de programas de vacinação observam-se relevantes diferenças. Posto isto, torna-se necessário a combinação de todos estes fatores para perceber a verdadeira explicação deste ressurgimento e atuar em conformidade (13).

O ideal seria uma solução a longo prazo, como uma nova vacina que permitisse o controlo e, quem sabe, a erradicação da infeção (8). No entanto, o desenvolvimento de uma nova vacina requer tempo (21). Posto isto, dada a urgência do controlo da tosse convulsa teremos que optar por medidas a curto-prazo, enquanto uma solução a longo prazo não se afigura (31).

Várias hipóteses já se colocaram como, a revacinação na adolescência, a vacinação durante a gestação, a vacinação do recém-nascido ou dos contactos próximos, a melhoria das *vacinas acelulares*, a criação de uma *vacina whole-cell* menos reatogénica ou a vacinação dos adultos e dos profissionais de saúde, mas nenhuma destas resolverá provavelmente o problema a longo-prazo (14, 16, 31, 37). Para além disso, os estudos acerca de qual será a melhor estratégia são contraditórios. A maioria suporta a vacinação das gestantes e dos contactos próximos como estratégias custo-efetivas. A vacinação dos adolescentes e dos adultos, apesar de ser custo-efetiva e reduzir o número de casos de tosse convulsa, quando utilizadas isoladamente não reduzem o número de casos entre as crianças. No entanto, não nos podemos esquecer do encargo económico avultado destas estratégias, sendo importante, antes de tudo isto, investir na educação da população acerca dos benefícios da vacinação, diminuindo assim, pelo menos, a recusa da vacinação (15).

Concluindo, torna-se necessário o desenvolvimento de uma vacina muito imunogénica, eficaz e segura que previna a infeção e a doença, o que se poderá conseguir com a vacina viva atenuada nasal *BPZE1* (21). O ideal seria que, esta nova vacina, pudesse ser administrada ao nascimento, de forma a conferir proteção imediata aos recém-nascidos, o grupo etário mais vulnerável. Caso isto continue a não ser possível, será necessário, para além da criação de uma nova vacina, a implementação de algumas das estratégias mencionados anteriormente, tal como vacinar as gestantes ou os contactos próximos com uma nova vacina que evite a transmissão da infeção, de forma a proteger a população mais vulnerável. Sendo assim, a chave para a resolução desta epidemia será, provavelmente, a combinação de várias estratégias eficazes (14, 16).

Referências

1. Mattoo S, Cherry JD. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(2):326-82.
2. Munoz F, Englund J. Infant pertussis: is cocooning the answer? *Clin Infect Dis.* 2011;53(9):893-6.
3. Torres RS, Santos TZ, Torres RA, Pereira VV, Favero LA, OR MF, et al. Resurgence of pertussis at the age of vaccination: clinical, epidemiological, and molecular aspects. *J Pediatr (Rio J).* 2015;91(4):333-8.
4. Sealey KL, Belcher T, Preston A. *Bordetella pertussis* epidemiology and evolution in the light of pertussis resurgence. *Infect Genet Evol.* 2016;40:136-43.
5. Riolo MA, Rohani P. Combating pertussis resurgence: One booster vaccination schedule does not fit all. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(5):E472-7.
6. Mooi FR, Van Der Maas NA, De Melker HE. Pertussis resurgence: waning immunity and pathogen adaptation - two sides of the same coin. *Epidemiol Infect.* 2014;142(4):685-94.
7. Syed MA, Bana NF. Pertussis. A reemerging and an underreported infectious disease. *Saudi Med J.* 2014;35(10):1181-7.
8. Burns DL, Meade BD, Messonnier NE. Pertussis resurgence: perspectives from the Working Group Meeting on pertussis on the causes, possible paths forward, and gaps in our knowledge. *J Infect Dis.* 2014;209 Suppl 1:S32-5.
9. Ausiello CM, Cassone A. Acellular pertussis vaccines and pertussis resurgence: revise or replace? *MBio.* 2014;5(3):e01339-14.
10. Warfel JM, Zimmerman LI, Merkel TJ. Acellular pertussis vaccines protect against disease but fail to prevent infection and transmission in a nonhuman primate model. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(2):787-92.
11. Blaylock JM, Hartzell JD. A major cause of pertussis resurgence: gaps in vaccination coverage. *Clin Infect Dis.* 2014;59(4):611-2.
12. Atwell JE, Salmon DA. Pertussis resurgence and vaccine uptake: implications for reducing vaccine hesitancy. *Pediatrics.* 2014;134(3):602-4.
13. Jackson DW, Rohani P. Perplexities of pertussis: recent global epidemiological trends and their potential causes. *Epidemiol Infect.* 2014;142(4):672-84.
14. Bechini A, Tiscione E, Boccalini S, Levi M, Bonanni P. Acellular pertussis vaccine use in risk groups (adolescents, pregnant women, newborns and health care workers): a review of evidences and recommendations. *Vaccine.* 2012;30(35):5179-90.
15. Chiappini E, Stival A, Galli L, de Martino M. Pertussis re-emergence in the post-vaccination era. *BMC Infect Dis.* 2013;13:151.
16. Loch C, Mielcarek N. New pertussis vaccination approaches: en route to protect newborns? *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012;66(2):121-33.
17. Kline JM, Lewis WD, Smith EA, Tracy LR, Moerschel SK. Pertussis: a reemerging infection. *Am Fam Physician.* 2013;88(8):507-14.
18. Cherry JD, Tan T, Wirsing von Konig CH, Forsyth KD, Thisyakorn U, Greenberg D, et al. Clinical definitions of pertussis: Summary of a Global Pertussis Initiative roundtable meeting, February 2011. *Clin Infect Dis.* 2012;54(12):1756-64.
19. Klein NP, Bartlett J, Rowhani-Rahbar A, Fireman B, Baxter R. Waning protection after fifth dose of acellular pertussis vaccine in children. *N Engl J Med.* 2012;367(11):1012-9.
20. Clark TA. Changing pertussis epidemiology: everything old is new again. *J Infect Dis.* 2014;209(7):978-81.
21. Loch C. Pertussis: Where did we go wrong and what can we do about it? *J Infect.* 2016;72 Suppl:S34-40.

22. Rocha G, Soares P, Soares H, Pissarra S, Guimaraes H. Pertussis in the newborn: certainties and uncertainties in 2014. *Paediatr Respir Rev.* 2015;16(2):112-8.
23. Rohani P, Earn DJ, Grenfell BT. Impact of immunisation on pertussis transmission in England and Wales. *Lancet.* 2000;355(9200):285-6.
24. Amirthalingam G. Strategies to control pertussis in infants. *Arch Dis Child.* 2013;98(7):552-5.
25. Global routine vaccination coverage, 2011. *Wkly Epidemiol Rec.* 2012;87(44):432-5.
26. Mills KH, Ross PJ, Allen AC, Wilk MM. Do we need a new vaccine to control the re-emergence of pertussis? *Trends Microbiol.* 2014;22(2):49-52.
27. Tan T, Dalby T, Forsyth K, Halperin SA, Heininger U, Hozbor D, et al. Pertussis Across the Globe: Recent Epidemiologic Trends From 2000-2013. *Pediatr Infect Dis J.* 2015.
28. Wood N, McIntyre P. Pertussis: review of epidemiology, diagnosis, management and prevention. *Paediatr Respir Rev.* 2008;9(3):201-11; quiz 11-2.
29. Centers for Disease C, Prevention. Summary of notifiable diseases--United States, 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012;59(53):1-111.
30. Wiedermann BL. What's wrong with acellular pertussis vaccines? *Clin Ther.* 2013;35(2):115-8.
31. Gaillard ME, Bottero D, Moreno G, Rumbo M, Hozbor D. Strategies and new developments to control pertussis, an actual health problem. *Pathog Dis.* 2015;73(8):ftv059.
32. Sheridan SL, Ware RS, Grimwood K, Lambert SB. Unexpectedly limited durability of immunity following acellular pertussis vaccination in preadolescents in a North American outbreak. *Clin Infect Dis.* 2012;55(10):1434-5; author reply 5-6.
33. Healy CM, Rench MA, Castagnini LA, Baker CJ. Pertussis immunization in a high-risk postpartum population. *Vaccine.* 2009;27(41):5599-602.
34. Zepp F, Heininger U, Mertsola J, Bernatowska E, Guiso N, Roord J, et al. Rationale for pertussis booster vaccination throughout life in Europe. *Lancet Infect Dis.* 2011;11(7):557-70.
35. Cherry JD. Epidemic pertussis in 2012--the resurgence of a vaccine-preventable disease. *N Engl J Med.* 2012;367(9):785-7.
36. Ross PJ, Sutton CE, Higgins S, Allen AC, Walsh K, Misiak A, et al. Relative contribution of Th1 and Th17 cells in adaptive immunity to *Bordetella pertussis*: towards the rational design of an improved acellular pertussis vaccine. *PLoS Pathog.* 2013;9(4):e1003264.
37. Althouse BM, Scarpino SV. Asymptomatic transmission and the resurgence of *Bordetella pertussis*. *BMC Med.* 2015;13:146.
38. Barkoff AM, Grondahl-Yli-Hannuksela K, He Q. Seroprevalence studies of pertussis: what have we learned from different immunized populations. *Pathog Dis.* 2015;73(7).
39. Zhang L, Prietsch SO, Axelsson I, Halperin SA. Acellular vaccines for preventing whooping cough in children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012(3):CD001478.
40. Centers for Disease C, Prevention. Global routine vaccination coverage--2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2013;62(43):858-61.
41. Mooi FR. *Bordetella pertussis* and vaccination: the persistence of a genetically monomorphic pathogen. *Infect Genet Evol.* 2010;10(1):36-49.
42. Bodilis H, Guiso N. Virulence of pertactin-negative *Bordetella pertussis* isolates from infants, France. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(3):471-4.
43. Bart MJ, Harris SR, Advani A, Arakawa Y, Bottero D, Bouchez V, et al. Global population structure and evolution of *Bordetella pertussis* and their relationship with vaccination. *MBio.* 2014;5(2):e01074.
44. He Q, Mertsola J. Factors contributing to pertussis resurgence. *Future Microbiol.* 2008;3(3):329-39.
45. Spokes PJ, Quinn HE, McAnulty JM. Review of the 2008-2009 pertussis epidemic in NSW: notifications and hospitalisations. *N S W Public Health Bull.* 2010;21(7-8):167-73.
46. Rohani P, Drake JM. The decline and resurgence of pertussis in the US. *Epidemics.* 2011;3(3-4):183-8.

47. Amirthalingam G, Andrews N, Campbell H, Ribeiro S, Kara E, Donegan K, et al. Effectiveness of maternal pertussis vaccination in England: an observational study. *Lancet*. 2014;384(9953):1521-8.
48. Warfel JM, Papin JF, Wolf RF, Zimmerman LI, Merkel TJ. Maternal and neonatal vaccination protects newborn baboons from pertussis infection. *J Infect Dis*. 2014;210(4):604-10.
49. Leuridan E, Hens N, Peeters N, de Witte L, Van der Meeren O, Van Damme P. Effect of a prepregnancy pertussis booster dose on maternal antibody titers in young infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30(7):608-10.
50. Healy CM, Rench MA, Baker CJ. Importance of timing of maternal combined tetanus, diphtheria, and acellular pertussis (Tdap) immunization and protection of young infants. *Clin Infect Dis*. 2013;56(4):539-44.
51. Ladhani SN, Andrews NJ, Southern J, Jones CE, Amirthalingam G, Waight PA, et al. Antibody responses after primary immunization in infants born to women receiving a pertussis-containing vaccine during pregnancy: single arm observational study with a historical comparator. *Clin Infect Dis*. 2015;61(11):1637-44.
52. Belloni C, De Silvestri A, Tinelli C, Avanzini MA, Marconi M, Strano F, et al. Immunogenicity of a three-component acellular pertussis vaccine administered at birth. *Pediatrics*. 2003;111(5 Pt 1):1042-5.
53. Halasa NB, O'Shea A, Shi JR, LaFleur BJ, Edwards KM. Poor immune responses to a birth dose of diphtheria, tetanus, and acellular pertussis vaccine. *J Pediatr*. 2008;153(3):327-32.
54. Wood N, McIntyre P, Marshall H, Robertson D. Acellular pertussis vaccine at birth and one month induces antibody responses by two months of age. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29(3):209-15.
55. Sharma SK, Pichichero ME. Functional deficits of pertussis-specific CD4+ T cells in infants compared to adults following DTaP vaccination. *Clin Exp Immunol*. 2012;169(3):281-91.
56. Gall SA. Prevention of pertussis, tetanus, and diphtheria among pregnant, postpartum women, and infants. *Clin Obstet Gynecol*. 2012;55(2):498-509.
57. de Greeff SC, Mooi FR, Westerhof A, Verbakel JM, Peeters MF, Heuvelman CJ, et al. Pertussis disease burden in the household: how to protect young infants. *Clin Infect Dis*. 2010;50(10):1339-45.
58. Castagnini LA, Healy CM, Rench MA, Wootton SH, Munoz FM, Baker CJ. Impact of maternal postpartum tetanus and diphtheria toxoids and acellular pertussis immunization on infant pertussis infection. *Clin Infect Dis*. 2012;54(1):78-84.
59. Healy CM, Baker CJ. Infant pertussis: what to do next? *Clin Infect Dis*. 2012;54(3):328-30.
60. Westra TA, de Vries R, Tamminga JJ, Sauboin CJ, Postma MJ. Cost-effectiveness analysis of various pertussis vaccination strategies primarily aimed at protecting infants in the Netherlands. *Clin Ther*. 2010;32(8):1479-95.
61. Skowronski DM, Janjua NZ, Tsafack EP, Ouakki M, Hoang L, De Serres G. The number needed to vaccinate to prevent infant pertussis hospitalization and death through parent cocoon immunization. *Clin Infect Dis*. 2012;54(3):318-27.
62. Wei SC, Tatti K, Cushing K, Rosen J, Brown K, Cassidy P, et al. Effectiveness of adolescent and adult tetanus, reduced-dose diphtheria, and acellular pertussis vaccine against pertussis. *Clin Infect Dis*. 2010;51(3):315-21.
63. Quinn HE, McIntyre PB. The impact of adolescent pertussis immunization, 2004-2009: lessons from Australia. *Bull World Health Organ*. 2011;89(9):666-74.
64. American Academy of Pediatrics Committee on Infectious D. Prevention of pertussis among adolescents: recommendations for use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, and acellular pertussis (Tdap) vaccine. *Pediatrics*. 2006;117(3):965-78.

65. Millier A, Aballea S, Annemans L, Toumi M, Quilici S. A critical literature review of health economic evaluations in pertussis booster vaccination. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2012;12(1):71-94.
66. Kretsinger K, Broder KR, Cortese MM, Joyce MP, Ortega-Sanchez I, Lee GM, et al. Preventing tetanus, diphtheria, and pertussis among adults: use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid and acellular pertussis vaccine recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and recommendation of ACIP, supported by the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC), for use of Tdap among health-care personnel. *MMWR Recomm Rep.* 2006;55(RR-17):1-37.
67. Centers for Disease C, Prevention. Notes from the field : use of tetanus, diphtheria, and pertussis vaccine (Tdap) in an Emergency Department - Arizona, 2009-2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012;61(3):55-6.
68. Garlapati S, Eng NF, Kiros TG, Kindrachuk J, Mutwiri GK, Hancock RE, et al. Immunization with PCEP microparticles containing pertussis toxoid, CpG ODN and a synthetic innate defense regulator peptide induces protective immunity against pertussis. *Vaccine.* 2011;29(38):6540-8.
69. Poland GA. Pertussis outbreaks and pertussis vaccines: new insights, new concerns, new recommendations? *Vaccine.* 2012;30(49):6957-9.
70. Feunou PF, Kammoun H, Debie AS, Mielcarek N, Loch C. Long-term immunity against pertussis induced by a single nasal administration of live attenuated *B. pertussis* BPZE1. *Vaccine.* 2010;28(43):7047-53.
71. Fedele G, Bianco M, Debie AS, Loch C, Ausiello CM. Attenuated *Bordetella pertussis* vaccine candidate BPZE1 promotes human dendritic cell CCL21-induced migration and drives a Th1/Th17 response. *J Immunol.* 2011;186(9):5388-96.
72. Thorstensson R, Trollfors B, Al-Tawil N, Jahnmatz M, Bergstrom J, Ljungman M, et al. A phase I clinical study of a live attenuated *Bordetella pertussis* vaccine--BPZE1; a single centre, double-blind, placebo-controlled, dose-escalating study of BPZE1 given intranasally to healthy adult male volunteers. *PLoS One.* 2014;9(1):e83449.
73. Santos MA, Pereira B, Furtado C. Tosse convulsa em Portugal: análise retrospectiva de casos clínicos suspeitos de infeção por *Bordetella pertussis* no período 2010-2014. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP. 2015; 4(Supl 6): 12-16.

Tabela 1 *Hipóteses formuladas para explicar o ressurgimento da tosse convulsa*

I. Ineficácia da vacina acelular:

- Alteração da *vacina whole-cell* para a *vacina acelular* na década de 90 (13);
- Conceção de proteção contra a tosse convulsa de menor durabilidade após a administração da *vacina acelular* em vez da antiga *vacina whole-cell* (21, 31, 37);
- Inadequado/ insuficiente balanço da resposta imune desencadeado pela *vacina acelular* (8);
- Insuficiente quantidade ou proporção dos antígenos contidos na *vacina acelular* (8);
- Diversidade de *vacinas acelulares* utilizadas, compostas por diferentes antígenos e adjuvantes e, conseqüentemente, com diferente eficácia (13).
- Ineficácia da *vacina acelular* em prevenir a transmissão da *B. pertussis* e, conseqüente infecção, originando vários casos de infecção assintomática que passam despercebidos (31, 37).

II. Insuficiente cobertura vacinal ou recusa da vacinação (13, 37)

III. Modificações genéticas adaptativas da *B. Pertussis* devido à pressão seletiva induzida pela introdução generalizada das vacinas acelulares (4, 13) (31)

IV. Alteração do número de casos de tosse convulsa registados na sequência de: (13, 15)

- Aumento do conhecimento e vigilância da doença (14);
- Incremento dos casos notificados e registados (14);
- Criação de novas definições clínicas;
- Melhoria das técnicas de diagnóstico, permitindo documentar casos atípicos que antes não se detetavam (14).

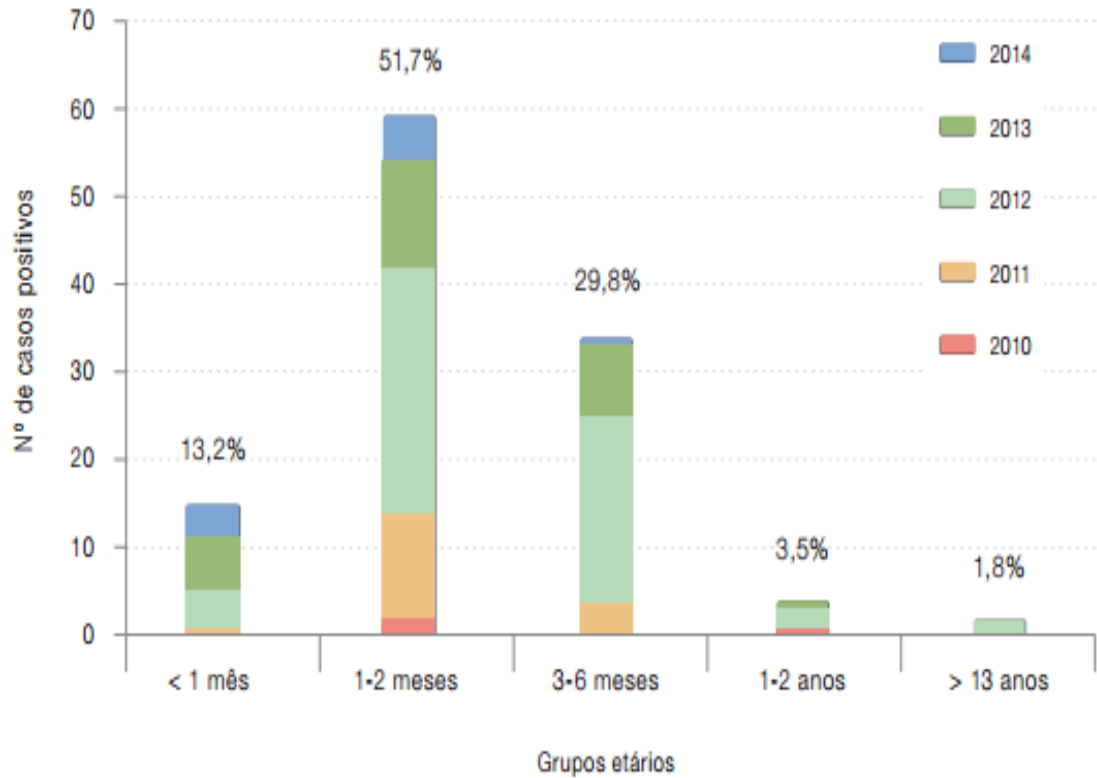


Figura 1: Distribuição por grupo etário de casos de tosse convulsa confirmados no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), 2010-2014 (73).

Retirado de: Santos MA, Pereira B, Furtado C. Tosse convulsa em Portugal: análise retrospectiva de casos clínicos suspeitos de infeção por *Bordetella pertussis* no período 2010-2014. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP. 2015; 4(Supl 6): 12-16.

AGRADECIMENTOS

À Dr.^a Marta Cadima, os meus mais sinceros agradecimentos por toda a orientação e disponibilidade, bem como por todos os conhecimentos que me transmitiu neste trabalho e enquanto sua aluna. Obrigada.

À Doutora Maria Hercília Areias, queria transmitir os meus agradecimentos pela ajuda e orientação no meu trabalho, no esclarecimento de várias dúvidas e na tomada de outras tantas decisões. Obrigada.

Aos meus pais, Estela e Luís, que foram o meu apoio e suporte neste percurso académico e que me permitiram cumprir esta etapa da minha vida. Obrigada.

A todos aqueles que me viram crescer e estiveram presentes, na Faculdade e fora dela, o meu agradecimento.

ANEXOS

Jornal de Pediatria | Instruções aos autores

O Jornal de Pediatria é a publicação científica da Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP), com circulação regular desde 1934. Todo o conteúdo do Jornal de Pediatria está disponível em português e inglês no site <http://www.jpmed.com.br>, que é de livre acesso. O Jornal de Pediatria é indexado pelo Index Medicus/MEDLINE (<http://www.pubmed.gov>), SciELO (<http://www.scielo.org>), LILACS (<http://www.bireme.br/abd/P/lilacs.htm>), EMBASE/Excerpta Medica (<http://www.embase.com>), Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC) Data Bases (<http://www.siicisalud.com>), Medical Research Index (<http://www.purple-health.com/medical-research-index.htm>) e University Microfilms International.

O Jornal de Pediatria publica resultados de investigação clínica em pediatria e, excepcionalmente, de investigação científica básica. Aceita-se a submissão de artigos em português e inglês. Na versão impressa da revista, os artigos são publicados em inglês. No site, todos os artigos são publicados em português e inglês, tanto em HTML quanto em PDF. A grafia adotada é a do inglês americano. Por isso, recomenda-se que os autores utilizem a língua com a qual se sintam mais confortáveis e confiantes de que se comunicam com mais clareza. Se um determinado artigo foi escrito originalmente em português, não deve ser submetido em inglês, a não ser que se trate de uma tradução com qualidade profissional.

Observação importante: A língua oficial de publicação do Jornal de Pediatria é o inglês e todo o site de submissão é apresentado exclusivamente em inglês.

Processo de revisão (Peer review)

Todo o conteúdo publicado pelo Jornal de Pediatria passa por processo de revisão por especialistas (peer review). Cada artigo submetido para apreciação é encaminhado aos editores, que fazem uma revisão inicial quanto aos padrões mínimos de exigência do Jornal de Pediatria e ao atendimento de todas as normas requeridas para envio dos originais. A seguir, remetem o artigo a dois revisores especialistas na área pertinente, selecionados de um cadastro de revisores. Os revisores são sempre de instituições diferentes da instituição de origem do artigo e são cegos quanto à identidade dos autores e ao local de origem do trabalho. Após receber ambos os pareceres, o Conselho Editorial os avalia e decide pela aceitação do artigo sem modificações, pela recusa ou pela devolução aos autores com as sugestões de modificações. Conforme a necessidade, um determinado artigo pode retornar várias vezes aos autores para esclarecimentos e, a qualquer momento, pode ter sua recusa determinada. Cada versão é sempre analisada pelo Conselho Editorial, que detém o poder da decisão final.

Tipos de artigos publicados

O Jornal de Pediatria aceita a submissão espontânea de artigos originais, artigos especiais e cartas ao editor.

Artigos originais incluem estudos controlados e randomizados, estudos de testes diagnósticos e de triagem e outros estudos descritivos e de intervenção, bem como pesquisa básica com animais de laboratório. O texto deve ter no máximo 3.000 palavras, excluindo tabelas e referências; o número de referências não deve exceder 30. O número total de tabelas e figuras não pode ser maior do que quatro.

Artigos que relatam ensaios clínicos com intervenção terapêutica (clinical trials) devem ser registrados em um dos Registros de En-

saio Clínicos listados pela Organização Mundial da Saúde e pelo International Committee of Medical Journal Editors. Na ausência de um registro latino-americano, o Jornal de Pediatria sugere que os autores utilizem o registro www.clinicaltrials.gov, dos National Institutes of Health (NIH). O número de identificação deve ser apresentado ao final do resumo.

Artigos especiais são textos não classificáveis nas demais categorias, que o Conselho Editorial julgue de especial relevância. Sua revisão admite critérios próprios, não havendo limite de tamanho ou exigências prévias quanto à bibliografia.

Cartas ao editor devem comentar, discutir ou criticar artigos publicados no Jornal de Pediatria. O tamanho máximo é de 1.000 palavras, incluindo no máximo seis referências bibliográficas. Sempre que possível, uma resposta dos autores será publicada junto com a carta.

São publicados, mediante convite, editoriais, comentários e artigos de revisão. Autores não convidados podem também submeter ao Conselho Editorial uma proposta para publicação de artigos dessas classificações.

Editoriais e comentários, que geralmente se referem a artigos selecionados, são encomendados a autoridades em áreas específicas. O Conselho Editorial também analisa propostas de comentários submetidas espontaneamente.

Artigos de revisão são avaliações críticas e ordenadas da literatura em relação a temas de importância clínica, com ênfase em fatores como causas e prevenção de doenças, seu diagnóstico, tratamento e prognóstico - em geral são escritos, mediante convite, por profissionais de reconhecida experiência. Meta-análises são incluídas nesta categoria. Autores não convidados podem também submeter ao Conselho Editorial uma proposta de artigo de revisão, com um roteiro. Se aprovado, o autor pode desenvolver o roteiro e submetê-lo para publicação. Artigos de revisão devem limitar-se a 6.000 palavras, excluindo referências e tabelas. As referências bibliográficas devem ser atuais e em número mínimo de 30.

Orientações gerais

O arquivo original - incluindo tabelas, ilustrações e referências bibliográficas - deve estar em conformidade com os "Requisitos Uniformes para Originais Submetidos a Revistas Biomédicas", publicado pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (<http://www.icmje.org>).

Cada seção deve ser iniciada em nova página, na seguinte ordem: página de rosto, resumo em português, resumo em inglês, texto, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas (cada tabela completa, com título e notas de rodapé, em página separada), figuras (cada figura completa, com título e notas de rodapé, em página separada) e legendas das figuras.

A seguir, as principais orientações sobre cada seção:

Página de rosto

A página de rosto deve conter todas as seguintes informações:

a) título do artigo, conciso e informativo, evitando termos supérfluos e abreviaturas; evitar também a indicação do local e da cidade onde o estudo foi realizado;

- b) título abreviado (para constar no topo das páginas), com máximo de 50 caracteres, contando os espaços;
- c) nome de cada um dos autores (primeiro nome e o último sobrenome; todos os demais nomes aparecem como iniciais);
- d) apenas a titulação mais importante de cada autor;
- e) endereço eletrônico de cada autor;
- f) informar se cada um dos autores possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPq;
- g) a contribuição específica de cada autor para o estudo;
- h) declaração de conflito de interesse (escrever “nada a declarar” ou a revelação clara de quaisquer interesses econômicos ou de outra natureza que poderiam causar constrangimento se conhecidos depois da publicação do artigo);
- i) definição de instituição ou serviço oficial ao qual o trabalho está vinculado para fins de registro no banco de dados do Index Medicus/MEDLINE;
- j) nome, endereço, telefone, fax e endereço eletrônico do autor responsável pela correspondência;
- k) nome, endereço, telefone, fax e endereço eletrônico do autor responsável pelos contatos pré-publicação;
- l) fonte financiadora ou fornecedora de equipamento e materiais, quando for o caso;
- m) contagem total das palavras do texto, excluindo resumo, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas e legendas das figuras;
- n) contagem total das palavras do resumo;
- o) número de tabelas e figuras.

Resumo

O resumo deve ter no máximo 250 palavras ou 1.400 caracteres, evitando o uso de abreviaturas. Não se devem colocar no resumo palavras que identifiquem a instituição ou cidade onde foi feito o artigo, para facilitar a revisão cega. Todas as informações que aparecem no resumo devem aparecer também no artigo. O resumo deve ser estruturado conforme descrito a seguir:

Resumo de artigo original

Objetivo: informar por que o estudo foi iniciado e quais foram as hipóteses iniciais, se houve alguma. Definir precisamente qual foi o objetivo principal e informar somente os objetivos secundários mais relevantes.

Métodos: informar sobre o delineamento do estudo (definir, se pertinente, se o estudo é randomizado, cego, prospectivo, etc.), o contexto ou local (definir, se pertinente, o nível de atendimento, se primário, secundário ou terciário, clínica privada, institucional, etc.), os pacientes ou participantes (definir critérios de seleção, número de casos no início e fim do estudo, etc.), as intervenções (descrever as características essenciais, incluindo métodos e duração) e os critérios de mensuração do desfecho.

Resultados: informar os principais dados, intervalos de confiança e significância estatística dos achados.

Conclusões: apresentar apenas aquelas apoiadas pelos dados do estudo e que contemplem os objetivos, bem como sua aplicação prática, dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares.

Resumo de artigo de revisão

Objetivo: informar por que a revisão da literatura foi feita, indicando se enfatiza algum fator em especial, como causa, prevenção, diagnóstico, tratamento ou prognóstico.

Fontes dos dados: descrever as fontes da pesquisa, definindo as bases de dados e os anos pesquisados. Informar sucintamente os critérios de seleção de artigos e os métodos de extração e avaliação da qualidade das informações.

Síntese dos dados: informar os principais resultados da pesquisa, sejam quantitativos ou qualitativos.

Conclusões: apresentar as conclusões e suas aplicações clínicas, limitando generalizações ao escopo do assunto em revisão.

Após o resumo, inclua de três a seis palavras-chave que serão usadas para indexação. Utilize termos do Medical Subject Headings (MeSH), disponíveis em <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>. Quando não estiverem disponíveis descritores adequados, é possível utilizar termos novos.

Abreviaturas

Devem ser evitadas, pois prejudicam a leitura confortável do texto. Quando usadas, devem ser definidas ao serem mencionadas pela primeira vez. Jamais devem aparecer no título e nos resumos.

Texto

O texto dos artigos originais deve conter as seguintes seções, cada uma com seu respectivo subtítulo:

a) Introdução: sucinta, citando apenas referências estritamente pertinentes para mostrar a importância do tema e justificar o trabalho. Ao final da introdução, os objetivos do estudo devem ser claramente descritos.

b) Métodos: descrever a população estudada, a amostra e os critérios de seleção; definir claramente as variáveis e detalhar a análise estatística; incluir referências padronizadas sobre os métodos estatísticos e informação de eventuais programas de computação. Procedimentos, produtos e equipamentos utilizados devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir a reprodução do estudo. É obrigatória a inclusão de declaração de que todos os procedimentos tenham sido aprovados pelo comitê de ética em pesquisa da instituição a que se vinculam os autores ou, na falta deste, por outro comitê de ética em pesquisa indicado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde.

c) Resultados: devem ser apresentados de maneira clara, objetiva e em sequência lógica. As informações contidas em tabelas ou figuras não devem ser repetidas no texto. Usar gráficos em vez de tabelas com um número muito grande de dados.

d) Discussão: deve interpretar os resultados e compará-los com os dados já descritos na literatura, enfatizando os aspectos novos e importantes do estudo. Discutir as implicações dos achados e suas limitações, bem como a necessidade de pesquisas adicionais. As conclusões devem ser apresentadas no final da discussão, levando em consideração os objetivos do trabalho. Relacionar as conclusões aos objetivos iniciais do estudo, evitando assertivas não apoiadas pelos achados e dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares. Incluir recomendações, quando pertinentes.

O texto de **artigos de revisão** não obedece a um esquema rígido de seções. Sugere-se uma introdução breve, em que os autores explicam qual a importância da revisão para a prática pediátrica, à luz da literatura médica. Não é necessário descrever os méto-

dos de seleção e extração dos dados, passando logo para a sua síntese, que, entretanto, deve apresentar todas as informações pertinentes em detalhe. A seção de conclusões deve correlacionar as ideias principais da revisão com as possíveis aplicações clínicas, limitando generalizações aos domínios da revisão.

Agradecimentos

Devem ser breves e objetivos, somente a pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria. Integrantes da lista de agradecimento devem dar sua autorização por escrito para a divulgação de seus nomes, uma vez que os leitores podem supor seu endosso às conclusões do estudo.

Referências bibliográficas

As referências devem ser formatadas no estilo Vancouver, também conhecido como o estilo Uniform Requirements, que é baseado em um dos estilos do American National Standards Institute, adaptado pela U.S. National Library of Medicine (NLM) para suas bases de dados. Os autores devem consultar Citing Medicine, The NLM Style Guide for Authors, Editors, and Publishers (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=citmed>) para informações sobre os formatos recomendados para uma variedade de tipos de referências. Podem também consultar o site “sample references” (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html), que contém uma lista de exemplos extraídos ou baseados em Citing Medicine, para uso geral facilitado; essas amostras de referências são mantidas pela NLM.

As referências bibliográficas devem ser numeradas e ordenadas segundo a ordem de aparecimento no texto, no qual devem ser identificadas pelos algarismos arábicos respectivos sobrescritos. Para listar as referências, não utilize o recurso de notas de fim ou notas de rodapé do Word.

Artigos aceitos para publicação, mas ainda não publicados, podem ser citados desde que indicando a revista e que estão “no prelo”. Observações não publicadas e comunicações pessoais não podem ser citadas como referências; se for imprescindível a inclusão de informações dessa natureza no artigo, elas devem ser seguidas pela observação “observação não publicada” ou “comunicação pessoal” entre parênteses no corpo do artigo.

Os títulos dos periódicos devem ser abreviados conforme recomenda o Index Medicus; uma lista com suas respectivas abreviaturas pode ser obtida através da publicação da NLM “List of Serials Indexed for Online Users”, disponível no endereço <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lisou.html>. Para informações mais detalhadas, consulte os “Requisitos Uniformes para Originais Submetidos a Revistas Biomédicas”. Este documento está disponível em <http://www.icmje.org/>.

Abaixo, apresentamos alguns exemplos do modelo adotado pelo Jornal de Pediatria:

Artigos em periódicos:

1. Até seis autores:

Araújo LA, Silva LR, Mendes FA. Digestive tract neural control and gastrointestinal disorders in cerebral palsy. *J Pediatr* (Rio J). 2012;88:455-64.

2. Mais de seis autores:

Ribeiro MA, Silva MT, Ribeiro JD, Moreira MM, Almeida CC, Almeida-Junior AA, et al. Volumetric capnography as a tool to detect early peripheral lung obstruction in cystic fibrosis patients. *J Pediatr* (Rio J). 2012;88:509-17.

3. Organização como autor:

Mercier CE, Dunn MS, Ferrelli KR, Howard DB, Soll RF; Vermont Oxford Network ELBW Infant Follow-Up Study Group. Neurodevelopmental outcome of extremely low birth weight infants from the Vermont Oxford network: 1998-2003. *Neonatology*. 2010;97:329-38.

4. Sem autor:

Informed consent, parental permission, and assent in pediatric practice. Committee on Bioethics, American Academy of Pediatrics. *Pediatrics*. 1995;95:314-7.

5. Artigos com publicação eletrônica ainda sem publicação impressa:

Carvalho CG, Ribeiro MR, Bonilha MM, Fernandes Jr M, Procianny RS, Silveira RC. Use of off-label and unlicensed drugs in the neonatal intensive care unit and its association with severity scores. *J Pediatr* (Rio J). 2012 Oct 30. [Epub ahead of print]

Livros:

Blumer JL, Reed MD. Principles of neonatal pharmacology. In: Yaffe SJ, Aranda JV, eds. *Neonatal and Pediatric Pharmacology*. 3rd ed. Baltimore: Lippincott, Williams and Wilkins; 2005. p. 146-58.

Trabalhos acadêmicos:

Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant, MI: Central Michigan University; 2002.

CD-ROM:

Anderson SC, Poulsen KB. Anderson's electronic atlas of hematology [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

Homepage/website:

R Development Core Team [Internet]. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2003 [cited 2011 Oct 21]. Available from: <http://www.R-project.org>

Documentos do Ministério da Saúde:

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. Atenção à saúde do recém-nascido: guia para os profissionais de saúde: cuidados gerais. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. v. 1. 192p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

Apresentação de trabalho:

Bugni VM, Okamoto KY, Ozaki LS, Teles FM, Molina J, Bueno VC, et al. Development of a questionnaire for early detection of factors associated to the adherence to treatment of children and adolescents with chronic rheumatic diseases - “the Pediatric Rheumatology Adherence Questionnaire (PRAQ)”. Paper presented at the ACR/ARHP Annual Meeting; November 5-9, 2011; Chicago, IL.

Tabelas

Cada tabela deve ser apresentada em folha separada, numerada na ordem de aparecimento no texto, e conter um título sucinto, porém explicativo. Todas as explicações devem ser apresentadas em notas de rodapé e não no título, identificadas com letras sobrescritas em ordem alfabética. Não sublinhar ou desenhar linhas dentro das tabelas e não usar espaços para separar colunas. Não usar espaço em qualquer lado do símbolo \pm .

Figuras (fotografias, desenhos, gráficos, etc.)

Todas as figuras devem ser numeradas na ordem de aparecimento no texto. Todas as explicações devem ser apresentadas nas legendas, inclusive acerca das abreviaturas utilizadas. Figuras reproduzidas de outras fontes já publicadas devem indicar esta condição na legenda, assim como devem ser acompanhadas por uma carta de permissão do detentor dos direitos. Fotos não devem permitir a identificação do paciente; tarjas cobrindo os olhos podem não constituir proteção adequada. Caso exista a possibilidade de identificação, é obrigatória a inclusão de documento escrito fornecendo consentimento livre e esclarecido para a publicação. Microfotografias devem apresentar escalas internas e setas que contrastem com o fundo.

As ilustrações são aceitas em cores para publicação no site. Contudo, todas as figuras serão vertidas para o preto e branco na versão impressa. Caso os autores julguem essencial que uma determinada imagem seja colorida mesmo na versão impressa, solicita-se um contato especial com os editores. Imagens geradas em computador, como gráficos, devem ser anexadas sob a forma de arquivos nos formatos .jpg, .gif ou .tif, com resolução mínima de 300 dpi, para possibilitar uma impressão nítida; na versão eletrônica, a resolução será ajustada para 72 dpi. Gráficos devem ser apresentados somente em duas dimensões, em qualquer circunstância. Desenhos, fotografias ou quaisquer ilustrações que tenham sido digitalizadas por escaneamento podem não apresentar grau de resolução adequado para a versão impressa da revista; assim, é preferível que sejam enviadas em versão impressa original (qualidade profissional, a nanquim ou impressora com resolução gráfica superior a 300 dpi). Nesses casos, no verso de cada figura deve ser colada uma etiqueta com o seu número, o nome do primeiro autor e uma seta indicando o lado para cima.

Legendas das figuras

Devem ser apresentadas em página própria, devidamente identificadas com os respectivos números.

Lista de verificação

Como parte do processo de submissão, os autores são solicitados a indicar sua concordância com todos os itens abaixo; a submissão pode ser devolvida aos autores que não aderirem a estas diretrizes.

1. Todos os autores concordam plenamente com a Nota de Copyright.
2. O arquivo de submissão foi salvo como um documento do Microsoft Word.
3. A página de rosto contém todas as informações requeridas, conforme especificado nas diretrizes aos autores.
4. O resumo e as palavras-chave estão na língua de submissão (inglês ou português), seguindo a página de rosto.
5. O texto é todo apresentado em espaço duplo, utiliza fonte tamanho 12 e itálico em vez de sublinhado para indicar ênfase (exceto em endereços da internet). Todas as tabelas, figuras e legendas estão numeradas na ordem em que aparecem no texto e foram colocadas cada uma em página separada, seguindo as referências, no fim do arquivo.
6. O texto segue as exigências de estilo e bibliografia descritas nas normas de publicação.
7. As referências estão apresentadas no chamado estilo de Vancouver e numeradas consecutivamente na ordem em que aparecem no texto.
8. Informações acerca da aprovação do estudo por um conselho de ética em pesquisa são claramente apresentadas no texto, na seção de métodos.
9. Todos os endereços da internet apresentados no texto (p.ex., <http://www.sbp.com.br>) estão ativos e prontos para serem clicados.